

Rev Inv Vet Perú 2005; 16 (1):56-64

DINÁMICA DE SEROCONVERSIÓN EN HEMBRAS BOVINAS POST ELIMINACIÓN DE ANIMALES PORTADORES DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA

César Jayashi F.¹, César Gavidia C.², Mariluz Arainga R.³, Alberto Manchego S.³
y Hermelinda Rivera G.^{3,4}

ABSTRACT

A study was conducted to determine the effect of culling BVDV carrier animals on the seroconversion against BVDV in the new generation of heifers from a dairy herd located in Arequipa, Peru. Blood samples were collected to 6-12 month old females in four sampling periods: January (n=73), June (n=48), October 2003 (n=48), and January 2004 (n=35) to evaluate their serological status against BVDV and to screen for carrier animals using the virus neutralization and antigen-capture ELISA tests, respectively. The prevalence of BVDV was 80.8 ± 9.0 , 56.3 ± 14.0 , 50.0 ± 14.2 and $22.9 \pm 13.9\%$ in the first, second, third and fourth sampling period, respectively. There were 2.7% (2/73) of carrier heifers in the group sampled in January 2003, and none in the subsequent sampling periods. The incidence of BVDV infection was 12/100 heifers per month from January 2003 till January 2004. The logistic regression test showed that culling of carrier animals in January 2003 reduced the risk of infection in subsequent months. In addition, age was a risk factor for VDV B infection in this group of animals. The results showed that BVDV infection is highly prevalent in herds having carrier animals, and that the culling of PI animals reduce the risk of infection in herd mates as indicated in the literature. The results also suggest that the control and eradication of BVDV in intensive management dairy herds may be possible by identifying and culling carrier animals and without vaccination but ensuring high level of biosecurity.

Key words: BVDV, bovine, carrier animal, prevalence, incidence, dairy herd, risk factor, control

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de la eliminación de los animales portadores del virus de la diarrea viral bovina (VDVB) sobre la seroconversión contra el virus en la nueva generación de animales de un establo lechero de crianza intensiva en Arequipa. Se colectaron muestras de suero a vaquillas entre 6 a 12 meses de edad en cuatro periodos: enero (n=73), junio (n=48) y octubre (n=48) del 2003 y enero del 2004 (n=35) para la detección de anticuerpos contra el VDVB y para la detección de

¹ Práctica privada

² Laboratorio de Medicina Veterinaria Preventiva, FMV-UNMSM

³ Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria, FMV-UNMSM

⁴ E-mail: hriverag@vet.unmsm.edu.pe

animales portadores (PI) del virus, mediante las pruebas de neutralización viral y ELISA captura de antígeno, respectivamente. La seroprevalencia del VDVB fue de 80.8 ± 9.0 , 56.3 ± 14.0 , 50.0 ± 14.2 y $22.9 \pm 13.9\%$ en el primero, segundo, tercero y cuarto periodo de muestreo, respectivamente. La prevalencia de animales portadores del virus fue de 2.7% (2/73) y fueron detectados únicamente en el grupo muestreado en enero del 2003. La incidencia de infección de VDVB fue 12/100 (24/59) al mes en el periodo enero 2003 a enero 2004. Mediante la prueba de regresión logística se demostró que la eliminación de animales PI en enero del 2003 redujo el riesgo de infección en los animales susceptibles en los siguientes periodos de muestreo. Además, la edad mostró ser un factor de riesgo para la infección con VDVB. Los resultados indican que la infección con VDVB es altamente prevalente en hatos que albergan animales portadores y que su eliminación reduce el riesgo de infección en el resto de animales, como se describe en la literatura. Los resultados sugieren que es posible el control y erradicación de la DVB en hatos lecheros de crianza intensiva mediante la identificación y eliminación de los animales portadores y sin vacunación pero manteniendo un alto nivel de bioseguridad en el establo.

Palabras clave: VDVB, bovino, animal portador, prevalencia, incidencia, hato lechero, factor de riesgo, control

INTRODUCCIÓN

La cuenca lechera de Arequipa junto a la cuenca de Cajamarca representan más del 38% de la producción lechera nacional. Además, la cuenca lechera de Arequipa cuenta con una población de 66,200 bovinos y una producción de 213,000 TM de leche (INEI, 1994). La ganadería lechera es una de las fuentes importantes de proteína de origen animal para el consumo de la población, por lo que los esfuerzos sanitarios deben estar dirigidos a lograr una mayor y más eficiente producción a través del mantenimiento de altos parámetros reproductivos y mediante el control de factores que originan pérdidas productivas y reproductivas. Uno de estos factores son las enfermedades infecciosas como la diarrea viral bovina (DVB), considerada como una de las causantes principales de pérdidas económicas en la industria lechera a nivel mundial (Houe, 2003).

La DVB es una enfermedad causada por el virus de la diarrea viral bovina (VDVB), miembro del género pestivirus de la familia Flaviviridae (Wengler, 1991) y afecta principalmente a los rumiantes domésticos y silvestres. El VDVB está distribuido mundialmente y muestra un especial tropismo por

células epiteliales y células del sistema inmune, favoreciendo la susceptibilidad del animal a infecciones secundarias (Charleston *et al.*, 2002). En el Perú, la DVB tiene mayor prevalencia en las principales cuencas lecheras, como Cajamarca, Lima, Arequipa, Junín y Cusco; además, se considera como una de las causantes de aborto en el valle de Lima (Rivera 2001; Alvarez *et al.*, 2002; Ståhl *et al.*, 2002; Rivera *et al.*, 2003). Serológicamente, la infección también ha sido detectada en camélidos sudamericanos, sobre todo en crías mixtas (Manchego *et al.*, 1998; Alvarez *et al.*, 2002).

Clínicamente, la DVB puede presentarse en forma aguda o subaguda, pero mayormente es de tipo subclínico. La forma subclínica y la aguda se caracterizan por un corto periodo de replicación viral con eliminación, seguido por una eficiente seroconversión y recuperación; además, en animales gestantes conlleva a la infección fetal, que puede resultar en el nacimiento de un ternero infectado e inmunotolerante, conocido como portador o persistentemente infectado, el cual elimina el virus en sus secreciones y excreciones mientras vive (Vilcek *et al.*, 2003). Los animales portadores son los principales reservorios del virus en el hato por lo que su detección y eliminación es uno de los

pilares en el control de la enfermedad (Lindberg y Alenius, 1999).

Recientes estudios realizados en algunas irrigaciones de la cuenca lechera de Arequipa, como Majes y Santa Rita, indican que la DVB tiene una prevalencia superior a 80% y que el aborto y otros problemas reproductivos son constantes en los hatos lecheros, pudiendo alcanzar hasta 20% en algunos de ellos (H. Rivera, datos sin publicar). Por estas razones, algunos ganaderos están adoptando medidas de control para la enfermedad. Actualmente, el control de la DVB es factible utilizando vacunas a virus muerto así como la eliminación de animales portadores (Bitsch y Ronsholt, 1995). En el Perú se utiliza la vacunación, aunque no en forma masiva, y la mayoría de los ganaderos emplean la vacuna como único método de control de la DVB.

El presente estudio tuvo como objetivo determinar el efecto de la eliminación de los animales portadores sobre: a) la seroconversión de anticuerpos contra VDVB en la nueva generación de terneras y vaquillas en un hato lechero de la irrigación Santa Rita, Arequipa, b) La detección de animales portadores del VDVB, c) La determinación de la tasa de incidencia de la infección con el VDVB y d) establecer el riesgo de presentación de la enfermedad asociado a la eliminación de los animales portadores.

MATERIALES Y MÉTODOS

Generalidades

El estudio fue realizado en un estable lechero de crianza intensiva ubicado en la irrigación Santa Rita, provincia de Sihuas, región Arequipa. El estable tenía cerca de 300 vacas en producción en el 2003 y sin programa de vacunación contra VDVB en los últimos diez años. El mayor problema sanitario del hato era la presentación de abortos, que superaba el 15% anual, por lo que en el año 2002 se decidió iniciar un programa de

control de VDVB. Con este fin, en enero del año 2002 se muestrearon todos los animales entre 6 a 15 meses de edad para conocer el estado serológico del VDVB. Además, se buscó antígeno viral en los sueros de los animales que resultaron seronegativos en busca de animales portadores del VDVB. El estudio inicial determinó que el 98.5% (590/600 animales) de los animales tenían anticuerpos contra el VDVB y que 2 de los diez animales jóvenes seronegativos resultaron ser portadores (animales persistentemente infectados, PI) (H. Rivera, Comunicación personal).

Obtención de muestras

En el presente estudio se obtuvieron muestras de sangre con vacutainer de la vena caudal media de todos los animales hembras que iban cumpliendo seis meses de edad a la fecha de cada toma de muestra (enero, junio y octubre del 2003 y enero del 2004) para la obtención de suero para la determinación de anticuerpos contra VDVB. En las hembras que resultaron negativas a anticuerpos contra el VDVB se colectaron en el breve plazo muestras de sangre con anticoagulante para la búsqueda de antígeno del VDVB.

Con el fin de estudiar la incidencia de la infección, los animales muestreados en enero que resultaron seronegativos, fueron nuevamente muestreados en junio; en los seronegativos detectados en junio se repitió el análisis en octubre y en los seronegativos de octubre se repitió en enero del 2004.

Las muestras obtenidas fueron enviadas al Laboratorio de Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria (FMV) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM), Lima, para su posterior procesamiento.

Detección de anticuerpos contra el VDVB

Los anticuerpos fueron detectados mediante la prueba de neutralización viral empleando como antígeno la cepa Singer,

Cuadro 1. Prevalencia del VDVB en bovinos hembras entre 6 a 12 meses de edad en un establo lechero de Arequipa, mediante la prueba de neutralización viral. Enero 2003 - enero 2004

Periodo	N° de Animales		Prevalencia \pm IC ¹ (%)
	Muestreados	Seropositivos	
Enero 2003	73	59	80.8 \pm 9.0
Junio 2003	48	27	56.3 \pm 14.0
Octubre 2003	48	24	50.0 \pm 14.2
Enero 2004	35	8	22.9 \pm 13.9

¹Intervalo de confianza del 95%

antisucros positivo y negativo de referencia y como sistema indicador se utilizaron cultivos celulares de cornete nasal de feto bovino, libres de VDVB, y según el protocolo disponible en el Laboratorio de Virología de la FMV-UNMSM. Las muestras con títulos de anticuerpos contra el VDVB iguales o mayores a 1:2 fueron consideradas positivas a anticuerpos.

Detección de antígeno del VDVB

La detección de antígeno de VDVB en muestras de sangre con anticoagulante fue realizada mediante la prueba de ELISA de Captura de Antígeno, de procedencia comercial (SVANOVA, Suecia) y según el protocolo indicado por la casa comercial. Una muestra fue considerada positiva al virus si presentaba una densidad óptica mayor a 0.2.

Los animales que resultaron positivos al virus se volvieron a muestrear 30 días después, repitiéndose la prueba, y sólo los animales que permanecieron positivos al virus fueron considerados portadores del virus.

Análisis de datos

Las dos vaquillas positivas a antígeno viral detectadas en enero del 2003 fueron eli-

minadas y a partir de este momento se evaluó el efecto de su eliminación. Se determinó la prevalencia de animales positivos a anticuerpos contra el VDVB y de animales PI en los cuatro periodos de la toma de muestras. Se calculó la tasa de incidencia de casos nuevos durante los tres periodos correspondientes a los intervalos de tiempo entre una toma de muestra y otra; y se calculó además, la incidencia global durante el periodo enero 2003 a enero 2004.

La prueba de Chi cuadrado fue utilizada para determinar la probable asociación entre el periodo de toma de muestra y la seropositividad en los animales, y entre edad y la seropositividad de los animales. El efecto de las variables, edad y periodo de toma de muestra sobre la positividad o negatividad de los animales muestreados para la infección con el VDVB fue evaluado mediante la prueba de regresión logística utilizando el software STATA® con un nivel de significancia de 0.05.

RESULTADOS

En el Cuadro 1 se presenta la seroprevalencia de VDVB en los cuatro periodos de

Cuadro 2. Tasa de incidencia de infección con el VDVB en bovinos hembras de 6 a 12 meses de edad en un establo lechero de Arequipa, durante el periodo enero 2003 a enero 2004

Periodo de muestreo	Animales susceptibles	Casos nuevos	Incidencia ¹ (hembras/mes)
Enero 2003 - junio 2003	12	8	11/100
Junio 2003 - octubre 2003	21	13	23/100
Octubre 2003 - enero 2004	24	3	5/100
Enero 2003 - enero 2004 (Global)	57	24	12/100

¹ La tasa de incidencia está indicada en base al número de animales que se infectan por cada 100 animales susceptibles

Cuadro 3. Distribución de títulos de anticuerpos neutralizantes contra el VDVB detectados mediante la prueba de neutralización viral en bovinos hembras de 6 a 12 meses de edad, en un establo lechero de Arequipa (2003-2004)

Periodo de muestreo	Animales (n)	Inversa de títulos de anticuerpos							
		< 2		2 - 8		16 - 64		128 - >256	
		n	%	n	%	n	%	n	%
Enero 2003	73	14	19.2	7	9.6	22	30.1	30	41.1
Junio 2003	48	21	43.8	2	4.2	7	14.6	18	37.5
Octubre 2003	48	24	50.0	0	0	3	6.3	21	43.8
Enero 2004	35	27	77.1	3	8.6	5	14.3	0	0
Total	204	86	42.2	12	5.9	37	18.1	69	33.8

Cuadro 4. Riesgo de infección con el VDVB determinado por las variables edad y toma de muestra, según el modelo de regresión logística en bovinos hembras de 6 a 12 meses de edad, de un establo lechero de Arequipa (2003-2004)

Variables	Odds Ratio (OR)	Intervalo de Confianza
Edad		
7 meses	3.36	1.30 - 8.61*
8 meses	1.29	0.52 - 3.19
9 meses	3.61	1.35 - 9.70*
Periodo		
Junio 2003	0.28	0.12 - 0.66*
Octubre 2003	0.16	0.06 - 0.41*
Enero 2004	0.05	0.02 - 0.16*

* Existe diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) con el grupo de 6 meses y con el grupo evaluado en enero 2003

muestreo. En enero 2003 se registra la mayor prevalencia ($80.8 \pm 9.0\%$, 59/73) la cual fue disminuyendo hasta llegar a 22.9 ± 13.9 (8/35) en enero 2004. Catorce de 73 hembras resultaron negativas a anticuerpos contra el VBDVB en enero del 2003, y de allí se detectaron 2 PI. Aparte de esos animales, no se detectaron animales portadores en los siguientes periodos de muestreos.

En el Cuadro 2 se presenta la tasa de incidencia de infección con VDBV en la población bajo estudio durante el periodo enero 2003 a enero 2004. La tasa de incidencia resultante anual fue de 12/100 hembras al mes.

Los títulos de anticuerpos contra el VDBV tuvieron un rango entre 2 a >256 (Cuadro 3). La prueba de Chi cuadrado demostró una asociación entre el periodo de toma de muestra y la seropositividad en los animales ($p < 0.05$), así como entre la edad y la seropositividad de los animales ($p < 0.05$). La prueba de regresión logística demostró que la edad (7 y 9 meses) era un factor de riesgo para la infección con VDBV en las terneras y vaquillas. Del mismo modo, se determinó que los animales muestreados en enero 2003 tenían mayor riesgo de infección que los animales muestreados posteriormente (Cuadro 4).

DISCUSIÓN

Pocos países disponen de un programa nacional de control y erradicación de la DVB basado principalmente en la identificación y eliminación de los animales portadores y sin uso de vacunaciones (Synge *et al.*, 1999). Así mismo, existen escasos estudios de evaluación del estado de la DVB en hatos lecheros luego de la eliminación de animales portadores como una primera medida para su control. En el Perú, la enfermedad no está sujeta a control y menos a erradicación, pero el efecto negativo del VDBV en el rendimiento reproductivo de los animales ha comenzado a motivar a algunos ganaderos a tomar medidas de control y erradicación del virus.

Previo al presente estudio, uno de los primeros pasos para establecer el estado de la DVB en un establo era la determinación de la prevalencia en el 100% de animales mayores a seis meses; llegando a determinarse que el 98.5% (590/600) de los animales tuvieron anticuerpos contra el VDBV. Esta alta seroprevalencia en el hato fue una clara evidencia de la existencia de animales portadores.

En el presente estudio, se encontró que el $80.8 \pm 9.0\%$ de hembras entre 6 y 12 meses tuvieron anticuerpos contra el VDBV y que dos vaquillas eran PI. En los bovinos, los anticuerpos pasivos no son detectados pasados los seis meses de edad, por lo que los anticuerpos detectados en estos animales habrían sido inducidos por el virus de campo, diseminado principalmente por los dos animales portadores; ya que un animal portador es capaz de infectar al 90% o más animales del hato en un lapso de dos a tres meses (Houe, 1995). Además, los anticuerpos neutralizantes detectados no corresponden a anticuerpos vacunales debido a la historia del establo de no haber utilizado vacunas como medida de prevención de la DVB. Si bien en la actualidad este hato es cerrado, la DVB en ese establo fue diagnosticada serológicamente casi dos décadas antes, y a pesar de los serios problemas reproductivos y entéricos, donde el VDBV posiblemente jugó un rol importante, no se tomaron medidas de control.

La prevalencia de animales portadores en el hato durante el periodo de doce meses fue de 0.98%, lo cual es similar a otros resultados de estudios en el país y en el mundo (Rivera *et al.*, 2003; Morales *et al.*, 2002; Chacón *et al.*, 2002; Schreiber *et al.*, 1999). Posiblemente, el surgimiento de animales portadores en el hato fue propiciado por el sistema de manejo, prevalencia de la infección y falta de control.

La elevada seroprevalencia ($80.8 \pm 9.0\%$, 59/73) del VDBV en el hato en estudio corrobora una amplia infección previa a

la eliminación de los animales portadores (Cuadro 1). Estos resultados son parecidos a los encontrados en otras cuencas lecheras del país como Junín, Lima, Cajamarca y Ayacucho, donde se encontraron prevalencias superiores a 70% (Contreras *et al.*, 2000; Alvarez *et al.*, 2002; Ståhl *et al.*, 2002; Rivera *et al.*, 2003) y en otros países como Estados Unidos (89%), Croacia (78%), Suiza (58%), Dinamarca (64%) y Canadá (58%), entre otros (Houe, 1995).

El efecto de la eliminación de los dos animales portadores fue evidente al reducirse la prevalencia del virus de $80.8 \pm 9.03\%$ (59/73) a $22.9 \pm 13.9\%$ (8/35) (Cuadro 1). Estos resultados muestran la probable eficacia del control de la DVB mediante la eliminación de los animales reservorios del virus sin la necesidad del uso de vacunas. La presencia de anticuerpos posterior a la eliminación de los animales portadores sugiere que el virus aún se encuentra en este lote de animales susceptibles, posiblemente ocasionando infecciones subclínicas, o quizás el virus ingresó desde el exterior por fallas en las medidas de bioseguridad (Nettleton y Entrican, 1995). No se han detectado anticuerpos en el mismo hato contra el VDVB ni animales portadores en análisis posteriores al estudio (H. Rivera, Comunicación personal).

Las vaquillas que resultaron negativas a anticuerpos con el VDVB en enero (n=14), junio (n=21) y octubre (n=24) del 2003, fueron nuevamente muestreadas entre los 4 a 5 meses posteriores a cada toma de muestra, determinándose una tasa anual de incidencia de 12/100 animales susceptibles (Cuadro 2). Estos resultados indican que si bien el virus estaba presente en el lote de animales, no tuvo oportunidad de establecerse por la habilidad de los animales de seroconvertir en anticuerpos y remover al virus antes de llegar a la etapa reproductiva. Sin embargo, debe tenerse presente que la eliminación del virus del hato a través de la identificación y beneficio de los animales portadores, aunado al monitoreo serológico, son herramientas ade-

cuadas para el control y erradicación de la DVB del hato, si es que el establelo cuenta con estrictas medidas de bioseguridad.

La variabilidad en los títulos de anticuerpos detectados en los animales indican una intensa actividad viral. Los títulos menores podrían indicar infecciones recientes, ya que los anticuerpos pueden ser detectados entre una a tres semanas posteriores a la infección, incrementándose hasta alcanzar la meta entre 10 a 12 semanas con títulos superiores a 1:256 (Brownlie *et al.*, 1995). Por su parte, Fredriksen *et al.* (1999) menciona que los niveles de anticuerpos pueden también estar influenciados por la naturaleza de la cepa viral presente en el hato y también por la cepa viral empleada como antígeno en la prueba de neutralización viral, debido a la amplia variación de las cepas de campo.

El análisis de regresión logística demostró que cuanto mayor era la edad de los animales, mayor era el riesgo de infección con VDVB. Los animales de 7 y 9 meses tienen un riesgo de infección mayor que los animales de seis meses. En los animales de 8 meses no se encontró un mayor riesgo de infección. Los resultados concuerdan con el estudio de Mainar-Jaime (2001), en donde la edad de los animales era un factor de riesgo para la infección con VDVB.

El efecto de la eliminación de los animales portadores se aprecia de manera notable con el método de regresión logística. Los animales tienen 72, 84 y 95% menos probabilidades de infectarse en los periodos de junio y octubre del 2003 y enero 2004, respectivamente, que los de enero del 2003, sin importar la edad de los animales al momento del muestreo (ajustado por edad).

Teniendo en cuenta el importante rol epidemiológico de los animales portadores en la difusión y mantenimiento de la infección (Houe, 1995), el estudio de la dinámica de infección post eliminación de animales portadores podría servir para cuantificar los efectos de las medidas de control y erradicación

del VDVB, basados en la eliminación de animales portadores. Finalmente, una de las consecuencias del amplio conocimiento de la patogénesis de la DVB es que la enfermedad puede ser controlada y erradicada, sobre todo en hatos lecheros de crianza intensiva, por el escaso riesgo de contacto con otros animales o de otras especies (Bezek, 1995). El resultado de este estudio tendría un efecto multiplicador en los demás hatos lecheros de crianza intensiva de la región, ya que la mayoría tienen características similares al hato en estudio.

CONCLUSIONES

- Fue posible reducir la infección por el VDVB en el hato mediante la identificación y remoción de los animales portadores y sin la necesidad del uso de vacunas.
- La prevalencia del VDVB en el hato en estudio se redujo de $80.8 \pm 9.0\%$ a $22.9 \pm 13.9\%$ en un período de 12 meses de eliminación de los animales portadores.

Agradecimientos

Un agradecimiento especial al Dr. Augusto Zelada por su apoyo y colaboración en el manejo y toma de muestras de los animales en estudio. También agradecemos al Sr. Daniel Lozada por las facilidades y comodidades otorgadas para la realización del presente trabajo, así como al Dr. Mario García por sus comentarios sobre el tema.

LITERATURA CITADA

1. *Álvarez, S.; H. Rivera; D. Pezo; W. García. 2002.* Detección de anticuerpos contra pestivirus en rumiantes en una comunidad campesina de la provincia de Canchis, Cusco. *Rev. Inv. Vet. Perú* 13: 46-51.
2. *Bezek, D.M. 1995.* Bovine virus diarrhea virus infection: individual and herd diagnosis. *Comp. Cont. Educ. Pract.* 17: 57-64.
3. *Bitsch, V.; L. Ronsholt. 1995.* Control of bovine viral diarrhea virus infection without vaccines. *Vet. Clin. North Am. Food Animal Practice* 11: 627-640.
4. *Brownlie, J.; M. Clarke; L. Hooper; G. Bell. 1995.* Protection of the bovine fetus from bovine viral diarrhea virus by means of a new inactivated vaccine. *Vet. Rec.* 137: 58-62.
5. *Chacón, J.; A. Benito; H. Rivera. 2002.* Detección de animales portadores del virus de la diarrea viral bovina en un establo vacunado y en otro sin vacunar del valle de Lima. *Rev. Acad. Peru. Cienc. Vet.* 3: 14-23.
6. *Charleston, B.; L.S. Brackenbury; B.V. Carr; M.D. Fray; J.C. Hope; C.J. Howard; W.I. Morrison. 2002.* Alpha, beta and gamma interferons are induced by infection with noncytopathic bovine viral diarrhea virus in vitro. *J. Virol.* 76: 923-927.
7. *Contreras, G.; K. Ståhl; C. Arana; H. Rivera. 2000.* Anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina en muestras de leche de bovinos del valle del Mantaro (Jauja, Concepción y Huancaayo). *Rev. Inv. Vet. Perú* 11: 58-65.
8. *Fredriksen, B.; T. Sandwich; T. Loken; T. Odegaard. 1999.* Level and duration of serum antibodies in cattle infected experimentally and naturally with bovine virus diarrhea virus. *Vet. Rec.* 144: 111-114.
9. *Houe, H. 1995.* Epidemiology of bovine viral diarrhea virus. *Vet. Clin. North Am. Food Animal Practice* 11: 521-547.
10. *Houe, H. 2003.* Economic impact of BVDV infection in dairies. *Biologicals* 31: 137-143.
11. *INEI. 1994.* Censo agropecuario. Disponible en: <http://www.inei.gob.pe>
12. *Lindberg, A.; S. Alenius. 1999.* Principles for eradication of bovine viral diarrhea virus (BVDV) infections in cattle populations. *Vet. Microbiol.* 64: 197-222.
13. *Mainar-Jaime, R.; B. Berzal-Herranz; P. Arias; F. Rojo-Vásquez. 2001.* Epidemiological pattern risk factors associated with bovine viral diarrhea virus (BVDV) infection in a

- non-vaccinated dairy cattle population from de Asturias region of Spain. *Prev. Vet. Med.* 52: 63-73.
14. **Manchego, A.; H. Rivera; R. Rosadio. 1998.** Seroprevalencia de agentes virales en rebaño mixto de una comunidad andina peruana. *Rev. Inv. Pec. Perú* 9: 1-10.
15. **Morales, S.; A. Benito; H. Rivera. 2002.** Terneros persistentemente infectados con el virus de la diarrea viral bovina en dos hatos lecheros de la provincia de Arequipa. *Rev. Acad. Peru. Cienc. Vet.* 3: 8-13.
16. **Nettleton, P.F.; G. Entrican. 1995.** Ruminant pestiviruses. *Br. Vet. J.* 151: 615-642.
17. **Rivera, H. 2001.** Causas frecuentes de aborto bovino. *Rev. Inv. Vet. Perú* 12: 117-122.
18. **Rivera, H.; K. Huamán; A. Benito; A. Díaz; C. Arana. 2003.** Prevalencia del virus de la diarrea viral bovina y animales portadores del virus en un hato lechero del valle del Mantaro. *Rev. Acad. Peru. Cienc. Vet.* 3: 1-7.
19. **Schreiber, P.; F. Dubois; F. Dreze; N. Lacroix; B. Limbourg; P. Coppe. 1999.** Prevalence of bovine virus diarrhea virus infection in Belgian white blue cattle in Southern Belgium. *Vet. Quart.* 21: 28-32.
20. **Ståhl, K.; H. Rivera; I. Vågsholm; J. Moreno-López. 2002.** Bulk milk testing for antibody seroprevalences to BVDV and BHV-1 in a rural region of Peru. *Prev. Vet. Med.* 56: 193-202.
21. **Synge, B.; A. Clark; J. Moar; J. Nicolson; P. Nettleton; J. Herring. 1999.** The control of bovine virus diarrhea virus in Shetland. *Vet. Microbiol.* 64: 223-229.
22. **Vilcek, S.; J. Mojzisova; V. Bajova; S. Paulik; L. Strojny; B. Durkovic; V. Hipikova. 2003.** A survey for BVDV antibodies in cattle farms in Slovakia and genetic typing of BVDV isolates from imported animals. *Acta Vet. Hung.* 51: 229-236.
23. **Wengler, G. 1991.** Family Flaviviridae. En: Classification and nomenclature of virus. Franki, R.I.B.; D.L. Fauquet; F. Brown (eds). p 223-233. Springer. Berlin.